

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکترای عمومی

عنوان

بررسی تأثیر تجویز طولانی ژل رویال بر دردالقا شده با فرمالین در موش صحرایی نر بالغ دیابتی

استاد راهنما

جناب آقای دکتر محمد صوفی آبادی

استاد مشاور

جناب آقای دکتر محمد حسین اسماعیلی

نگارش

علیرضا معصومی

فروردین ۱۳۹۸

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

شکر شایان نثار ایزد منان که توفیق را رفیق راهم ساخت تا این پایان نامه را به پایان برسانم .

این پایان نامه را ضمن تشکر و سپاس بیکران و در کمال افتخار و امتنان تقدیم می نمایم به

محضر ارزشمند پدر و مادر عزیزم به خاطر همه ی تلاش های محبت آمیزی که در دوران مختلف زندگی ام

انجام داده اند و با مهربانی چگونه زیستن را به من آموخته اند.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر محمد صوفی آبادی به عنوان استاد راهنما که همواره نگارنده را مورد لطف و

محبت خود قرار داده اند، کمال تشکر را دارم.

از استاد گرامیم جناب آقای دکتر محمد حسین اسماعیلی بسیار سپاسگزارم چرا که بدون رهنمودهای ایشان

انجام این کار بسیار مشکل می نمود.

چکیده:

عنوان: بررسی اثر تجویز طولانی ژل رویال بر دردالفا شده با فرمالین در موش صحرایی نر بالغ دیابتی

زمینه و هدف: دیابت موجب آسیب اندام های مختلف و بویژه سیستم عصبی شده و در نتیجه بر عملکرد آنها تاثیر منفی می گذارد. یکی از سیستم های درگیر در اثر دیابت سامانه انتقال و درک درد است. ادعا شده است که ژل رویال اثر حفاظتی بر سیستم عصبی دارد، لذا دراین مطالعه تجربی اثر تجویز طولانی ژل رویال بر دردالفا شده با فرمالین در موش صحرایی نر بالغ دیابتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این پژوهش ۴۸ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار به طور تصادفی در ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند، شامل: (۱) گروه کنترل (۲) گروه دیابتی بدون درمان (۳) گروه دیابتی دریافت کننده داروی گلی بن کلامید با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم . (۴) گروه دیابتی دریافت کننده ژل رویال با دوز ۵۰ میلی گرم/کیلو گرم (۵) گروه دیابتی دریافت کننده ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلو گرم (۶) گروه دیابتی دریافت کننده ژل رویال با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلو گرم. حیوانات گروه ۳ بمدت ۳۰ روز داروی گلی بن کلامید را دریافت و گروه های ۴ ، ۵ و ۶ نیز به مدت ۳۰ روز ژل رویال را از طریق گاواژ پس از ایجاد دیابت دریافت کردند. جهت القاء دیابت در موش ها از محلول تازه تهیه شده استرپتوزوتوسین به مقدار ۶۰ میلی گرم/کیلو گرم وزن بدن به صورت تک دوز استفاده شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق STZ ، نمونه خون از ورید دمی گرفته شد و فقط حیواناتی با سطح گلوکز خون 200 mg/dl یا بالاتر به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. پس از اتمام دوره ۳۰ روزه دیابتی شدن و تغذیه حیوانات با ژل رویال یا دارو یا حلال، بین ساعات ۹ تا ۱۲ صبح، در آزمایشگاه تحت شرایط استاندارد آزمون درد تست فرمالین بعمل آمد.

یافته ها: نتایج بدست آمده نشان داد که دیابت موجب افزایش حس درد ناشی از فرمالین در فاز حاد و مزمن می شود ولی بر فاز اینترفاز تاثیری ندارد. درمان با ژل رویال بویژه در دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلو گرم مانع از اثر دیابت بر فرایند فیزیولوژیک درد در هر دو مرحله شد ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: برطبق این یافته ها دیابت موجب اختلال احساس درد طبیعی می شود و مصرف ژل رویال احتمالاً از طریق مهار آسیب عصبی مانع بروز شدید این عارضه می شود.

واژه های کلیدی: ژل رویال، درد، آزمون فرمالین، موش صحرایی، دیابت .

فصل اول: مقدمه و بیان مساله	۶
۱- مقدمه بیان مساله	۷
۱-۲ مروری بر متون	۱۹
فصل دوم: روش پژوهش اهداف و فرضیات	۲۳
فصل سوم: روش پژوهش	۲۵
فصل چهارم: یافته ها	۲۹
فصل پنجم: بحث، نتیجه گیری	۳۴
فهرست منابع:	۴۰

فصل اول

بیان مساله

و

بررسی متون

۱-۱ مقدمه و بیان مسئله:

۱-۱-۱. دیابت

دیابت یکی از شایعترین اختلالات متابولیسمی بوده که با عوارض متعددی در اندام های گوناگون همراه است. عوارض نورولوژیک متعددی ناشی از دیابت در دستگاه عصبی مرکزی و محیطی رخ می دهد (۱ و ۲). وجود ضایعات ساختمانی و فیزیولوژیک در دستگاه عصبی مرکزی در افراد مبتلا به دیابت مشخص شده است (۳-۵).

۱-۱-۲. انواع دیابت

دیابت بر اساس فرایند پاتولوژیک به دو دسته اصلی شامل نوع ۱ و ۲ و همچنین دیابت بارداری و انواع دیگر دیابت طبقه بندی می شود .

انواع دیگر دیابت شامل نقایص ژنتیکی دخیل در عملکرد و ترشح انسولین و ناهنجاری های متابولیک و میتوکندریال مانند دیابت نوع MODY است (۶).

۱-۱-۳. پاتوفیزیولوژی دیابت

دیابت نوع ۱ ، یک بیماری اتوایمیون مزمن است که در افرادی که ژن اختصاصی آن را دارند، ایجاد می شود و عوامل محیطی نیز موجب تسریع آن می شوند. سیستم ایمنی بدن بر علیه سلول های بتا پانکراس پاسخ ایمنی ایجاد می کند . تقریباً ۸۵٪ بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱، دارای آنتی بادی ضد سلول های جزایر پانکراس هستند و همچنین اغلب بیماران آنتی بادی ضد انسولین را در خون خود دارند. اکثر آنتی بادی های ضد سلول های جزایر پانکراس، مستقیماً به گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز موجود در سلول های بتای پانکراس حمله می کنند. به این ترتیب ، با مورد هدف قراردادن سلول های بتا (به عنوان تنها تولیدکننده انسولین)، انسولین کاهش می یابد (۷). به دنبال کاهش انسولین سطح قند خون و هورمون گلوکاگون بالا می رود. همچنین ورود گلوکز به

داخل سلول های عضلانی و چربی کاهش می یابد و اثر مهارى انسولین بر کبد، از بین می رود و در نتیجه تولید گلوکز و لیپولیز و کتوژنز کبدی افزایش می یابد(۸).

دیابت نوع ۲ یک اختلال متابولیک است که اتیولوژی آن مجموع چند عامل از جمله محیط ، ژنتیک، عوامل اجتماعی و رفتاری می باشد(۹). ژنتیک در دیابت نوع ۲ نقش پررنگ تری دارد. هموستاز گلوکز به تعادل بین انسولین ترشح شده از سلول های بتا، و عملکرد انسولین بستگی دارد(۱۰). در دیابت نوع ۲، مقاومت به انسولین به تنهایی کافی نیست و ترشح نامناسب انسولین از سلول های بتا نیز ضروری است(۱۱-۱۳). همچنین افراد چاق به علت ترشح برخی متابولیت ها مانند لپتین و آدیپونکتین از بافت چربی ، به خصوص چربی اطراف شکم، بیشتر مستعد ابتلا به دیابت نوع ۲ هستند، زیرا این متابولیت ها موجب کاهش ترشح انسولین و همچنین کاهش حساسیت سلول ها به انسولین و در نتیجه سبب مقاومت به انسولین می شوند (۱۴).

۴-۱-۱. عوارض دیابت

دیابت عوارض حاد و مزمن متعددی دارد.

عوارض حاد آن شامل: کتواسیدوز دیابتیک و وضعیت هیپراسمولار هیپرگلیسمیک است .

عوارض مزمن :

۱. میکروواسکولار شامل رتینوپاتی و ادم ماکولار،نفروپاتی، نوروپاتی حسی و حرکتی و اتونوم

۲. ماکروواسکولار شامل بیماری عروق کرونری، بیماری شریانی محیطی، بیماری مغزی عروقی.

عوارض دیگر شامل گاستروپارزی، اسهال، اوروپاتی، اختلال عملکرد جنسی، عفونت ها، کاتاراکت، گلوکوم، کاهش شنوایی(۱۵).

۵-۱-۱. عوارض عصبی دیابت

نوروپاتی دیابتی یکی از شایع ترین عوارض میکروواسکولار دیابت است. نوروپاتی قرینه دیستال و پلی نوروپاتی شایع ترین انواع نوروپاتی دیابتی هستند که موجب ناتوانی قابل توجهی می شوند (۱۶-۱۷). درد شدید، کاهش و فقدان حس و افزایش خطر ایجاد زخم پا و آمپوتاسیون از عوارض نوروپاتی دیابتی است (۱۸).

بروز پلی نوروپاتی در بیماران دیابتی ۵۰-۱۰٪ است (۱۶، ۱۸ و ۱۹). نوروپاتی در ۱۰٪ بیماران در زمان تشخیص وجود دارد. به طور کلی ۵۰٪ آنها پس از گذشت ۲۵ سال از بیماری به آن مبتلا خواهند شد (۲۰ و ۲۱).

خطر قطع پا در تمام طول زندگی در بیماران مبتلا به پلی نوروپاتی ۱۵٪ است (۲۰). اولین مرحله در ایجاد زخم پا و قطع آن، پلی نوروپاتی است. نوروپاتی با ایجاد بی حسی در پا و اختلال در درک حس عمقی، پا را در معرض ایجاد زخم قرار می دهد. زیرا با ایجاد بی حسی و نقص در درک حس عمقی، وزن و بار اضافی و نامناسب به پاها تحمیل می شود و زخم در مناطقی که دقیقاً نقطه انتقال فشار هستند ایجاد می شود (۲۲). به نظرمی رسد

عوامل خطر آترواسکلروز پیشرفت نوروپاتی دیابتی را تسریع می کنند. یکی از انواع نوروپاتی دیابتی مونونوروپاتی است که با پرفشاری خون، هیپرلیپیدمی و مصرف سیگار در ارتباط است (۲۳). در مطالعه ای که در مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت، بین سن، جنس، میزان کنترل دیابت و مدت ابتلا به دیابت با نوروپاتی، ارتباط وجود داشت (۱۶ و ۱۸)، هر چند در بسیاری از موارد نمی توان از نوروپاتی دیابتی پیشگیری کرد، اما امکان آن وجود دارد که با یک برخورد مناسب پیشگیرانه و درمانی و نیز آموزش و اطلاع رسانی کافی به بیماران به نحو قابل ملاحظه ای این عوارض را کاهش داد (۲۴).

تقسیم بندی نوروپاتی دیابتی شامل نوروپاتی حسی- حرکتی و نوروپاتی اتونوم می باشد. بیماران دیابتی ممکن است فقط یک نوع و یا همه انواع نوروپاتی را نشان دهند. نوروپاتی حسی شامل سه گروه می باشد: پلی نوروپاتی قرینه دیستال، نوروپاتی موضعی، نوروپاتی آمیوتروفی. نوروپاتی حرکتی در مواردی است که اختلال عملکرد

عضله به وضوح وجود داشته باشد. نوروپاتی سیستم عصبی خودکار بر اساس دستگاهی که درگیر می کند طبقه بندی می شود. تشخیص زود هنگام نوروپاتی دیابتی نیاز به اخذ شرح حال و معاینه بالینی دقیق دارد. در نوروپاتی حسی، اعصابی که دارای آکسون طویل تری هستند، زودتر آسیب می بینند، مانند اختلال حسی دستکش و جوراب. آسیب اعصاب کوتاه تر سبب اختلال در حس لمس سطحی، درد، دما و ارتعاش می شود. آسیب اعصاب طویل تر سبب اختلال درک حس لرزش، موقعیت و نیروی وارد به عضله و تشخیص دو نقطه از هم می شود. نوع دیگر نوروپاتی، پلی رادیکولوپاتی است و ممکن است باعث درد انتشاری به اندام و یا درد شکم شود. در این اختلال درد دو طرفه، ضعف و آتروفی عضلات ایلئوپسواس، عضله چهار سر و عضله نزدیک کننده پا و درگیری ریشه های عصبی L2, L3, L4 و اختلال میوگرافی وجود دارد. در بررسی نوروپاتی حسی حرکتی باید از بیمار در مورد سابقه افتادن به یک سمت بدن و اختلال تعادل بیمار سوال کرد و در معاینات باید رفلکس تاندون آشیل و تاندون کشکک و راه رفتن آتاکسیک بررسی شود. پلی نوروپاتی قرینه دیستال شایع ترین نوع نوروپاتی دیابتی است. این اختلال در ۵۰-۴۰٪ از افراد دیابتی که ۲۵ سال یا بیشتر از ابتلا به دیابت آنها گذشته است، اتفاق می افتد. این نوروپاتی اغلب در پاها رخ می دهد و مزمن و پیشرونده بوده و درد در دیستال اندام ها وجود دارد و به تدریج دچار کاهش حس می شوند و مستعد زخم، سوختگی، عفونت، گانگرن و بیماری شارکوت می گردند. این بیماران ممکن است دچار سندرم کاهش وزن عصبی شوند که شامل بی اشتها، افسردگی و کاهش وزن است. مونونوروپاتی دیابتی شروع ناگهانی و غیر قرینه دارد. در این افراد اعصاب ۳ و ۴ و ۶ درگیر می شوند. شایع ترین اعصاب محیطی که درگیر می شوند، اعصاب مدیان، رادیال و پوپلیته آل خارجی است. در مونونوروپاتی مولتی پلکس اعصاب متعدد و در یک طرف درگیر می شوند. در اینجا باید واسکولیت رد شود. علت آمیوتروفی دیابتی درگیری عصب فمورال یا اعصاب حرکتی پروگزیمال است. معمولاً دو طرفه و همراه کاهش وزن است. این افراد ضعف و درد عضلات و کاهش رفلکس پاتلار دارند. آمیوتروفی دیابتی بیشتر در مردان مسن مبتلا به دیابت نوع دو ایجاد می شود. آتروفی عضلات و محدودیت حرکت عضلات ایلئوپسواس، چهارسر و نزدیک کننده وجود دارد. نوروپاتی اتونوم در دیابت نوع یک و دو ایجاد می شود. با اینکه این نوروپاتی

در هر مرحله ای از ابتلا به دیابت رخ می دهد (۲۵و۲۶)، اما بیشتر افرادی را درگیر می کند که بیست سال از ابتلا به دیابت آنها گذشته و در طی این مدت کنترل قند خون قابل قبول نبوده است. در این اختلال اعصاب سمپاتیک نیز آسیب می بینند. نوروپاتی اتونوم در اثر دیابت سبب عدم آگاهی فرد از افت قند خون می شود. بسیاری از محققان نشان داده اند که نوروپاتی اتونوم غیر قابل برگشت است ولی با این وجود با کنترل دقیق قند خون می توان نوروپاتی سمپاتیکی سیستم قلبی عروقی را برگرداند. خطر بروز اختلال قلبی و عروقی در افراد دیابتی دو تا چهار برابر جمعیت عادی است (۲۷). در نوروپاتی اتونوم سیستم قلبی عروقی بیشتر اعصاب سمپاتیک و پاراسمپاتیک درگیر است. از نظر بالینی اتفاقاتی که در اثر نوروپاتی در سیستم قلبی و عروقی می افتد شامل تاکی کاردی سینوسی مزمن، عدم تغییر ضربان قلب طی فعالیت و برادی کاردی می باشد.

نوروپاتی اتونوم سیستم قلبی عروقی در افراد دیابتی نوع ۱ سبب طولانی شدن فاصله QT در الکتروکاردیوگرافی می شود و همین اختلال علت آریتمی و مرگ ناگهانی است. این نوع نوروپاتی سبب عدم درک درد ایسکمی قلب شده و در نتیجه درمان دارویی به تاخیر می افتد و نوروپاتی اتونوم می تواند باعث مرگ ناگهانی در بیمار دیابتی شود (۲۸). نوروپاتی وازوموتور به دلیل اثر بر عروق اسپلانکنیک و محیطی سبب افت فشار خون وضعیتی می شود. سنکوپ و سرگیجه ممکن است با درمان انسولین بدتر شود. در این افراد باید علائم حیاتی و الکترومیوگرافی و فشار خون وضعیتی بررسی شوند. کاهش اثر سمپاتیک عروق سبب گشاد شدن آنها شده، میزان خون رسانی بافت نرم و استخوان افزایش می یابد. افزایش جریان خون استخوان سبب می شود تا میزان کلسیم کورتکس استخوان کاهش یابد و نتیجه آن کاهش بافت معدنی استخوان خواهد بود (۲۹). مجموعه اختلال نوروپاتی حرکتی عروق محیطی و نوروپاتی شبه حرکتی (Pseudomotor) سمپاتکتومی خود به خودی نامیده می شود. پلی نوروپاتی قرینه دیستال و سمپاتکتومی خود به خودی زمینه ساز بیماری شارکوت است (۳۰). نوروپاتی شبه حرکتی سبب افزایش تعریق و عدم تنظیم حرارت بدن در قسمت فوقانی یا عدم تعریق در قسمت انتهایی تحتانی بدن می شود. افزایش دمای بدن بندرت اتفاق می افتد. پوست دچار خارش، خشکی، ریزش مو، پوسته پوسته شدن، ترک خوردگی، کالوس و دیستروپی ناخن می شود که احتمال زخم شدن پوست را

بالا می برد. نوروپاتی اتونوم دستگاه گوارش هر قسمتی از دستگاه گوارش را گرفتار می کند. این اختلال سبب کاهش انقباضات مری و در نتیجه دیسفاژی می شود. افزایش سرعت عبور مواد در روده کوچک، افزایش رشد باکتری و افزایش ترشحات روده سبب اسهال در افراد دیابتی می شوند (۳۱). افزایش زمان عبور مواد از روده بزرگ سبب یبوست می شود. در نوروپاتی اتونوم سیستم گوارشی بی اختیاری مدفوع شایع است (۳۲). در اختلال عملکرد مثانه در اثر دیابت، پر شدن مثانه حس نمی شود و اختلال عملکرد عضله دترسوراتفاق می افتد و همین امر سبب باقی ماندن و دفع ناکامل ادرار می شود. در نتیجه بی اختیاری ادرار، در اثر افزایش حجم ادرار و عفونت مجاری ادرار ایجاد می شود. افزایش قند خون به تنهایی سبب افزایش فیلتراسیون گلومرولی و بی اختیاری ادرار می شود. اختلالات نفوذ در سالهای اولیه ابتلا به دیابت در مردان دیده می شود (۳۳). اختلالات جنسی در زنان دیابتی شامل خشکی واژن، کاهش حس پرینه، دیس پارونی، کاهش لیبیدو و عدم ارگاسم می باشد (۲۵). کنترل دقیق قندخون در ۶۰٪ موارد پیشرفت نوروپاتی دیابتی را کاهش می دهد. هدف از کنترل دقیق قند خون برای پیشگیری از نوروپاتی دیابتی حفظ هموگلوبین گلیکوزیله در بیماران دیابتی نوع یک و دو در حد ۶/۵ درصد و کمتر می باشد (۳۴ و ۳۵). اجتناب از مصرف پمادهای موضعی و پوشیدن کفش های راحت و عدم تماس با آب اکسیژنه و وسایل داغ بسیار مهم است. مراقبت صحیح از پاها (بررسی روزانه پاها، شستشو روزانه پاها، کوتاه کردن ناخن ها، پوشش پاها، کنترل قند خون، کاهش فشار وارد بر پا، جراحی های پیشگیرانه) موجب پیشگیری از نوروپاتی دیابتی، زخم و عفونت و نهایتا مانع قطع شدگی پا می شود (۳۶-۳۷). از دیگر عوارض عصبی مهم مرتبط با دیابت، وجود اختلالات یادگیری و حافظه می باشد. افراد مبتلا به دیابت در آزمون های شناختی دارای اختلالات متوسطی نسبت به گروه کنترل هستند (۳۸-۴۰). دردیابت القاء شده توسط استرپتوزوتوسین (STZ) که به عنوان مدل تجربی دیابت نوع I مورد استفاده زیادی قرار گرفته است، نیز اختلالات یادگیری و حافظه ای و حس درد مطرح شده است (۳ و ۴۱ و ۴۲). از طرف دیگر با توجه به عوارض

جانبی متعدد داروهای شیمیایی موثر بردستگاه عصبی، اخیراً، تمایل زیادی برای استفاده از عوامل طبیعی جهت درمان عوارض حاصل از بیماری دیابت بیشتر شده است (۴۳-۴۵).

۱-۱-۶. تشخیص دیابت

کرایتریای تشخیصی دیابت شامل ۲ مورد از موارد زیر است (۱۱ و ۱۲):

قند ناشتای صبحگاهی (FBS) مساوی یا بیشتر از ۱۲۶ میلی گرم بر دسی لیتر

قند تصادفی (BS) مساوی یا بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر به همراه علائم دیابت (پر خوری، پرنوشی، کاهش وزن، پرادراری)

قند ۲ ساعته (OGTT) مساوی یا بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر

هموگلوبین گلیکوزیله (HBA1C) مساوی یا بیشتر از ۶,۵ درصد

۱-۱-۷. راههای درمان دیابت

بر طبق اغلب مطالعات اولین قدم در درمان دیابت تغییر شیوه زندگی به صورت کاهش غذاهای با کالری و چربی بالا، انجام فعالیت های فیزیکی و درمان هیپرتانسیون و هیپرلیپیدمی است. همچنین کاهش وزن در رسیدن به اهداف درمانی در دیابت نوع ۲ بسیار حائز اهمیت است (۴۶ و ۴۷). تمام افراد دیابتی باید روش خودپایشی قند خون (SMBG) و همچنین علائم افزایش و کاهش قند خون را بدانند (۴۸ و ۴۹). در مواردی که با انجام ورزش و تغییر شیوه زندگی میزان هموگلوبین گلیکوزیله (HBA1C) به کمتر از ۷ نرسد دارودرمانی شروع می شود (۵۰ و ۵۱). شایعترین داروی خوراکی در درمان دیابت، متفورمین از دسته بی گوانیدها می باشد (۵۱). یکی از مزایای آن کاهش وزن و بهبود پروفایل چربی است. همچنین می توان از داروهای دیگر از قبیل انسولین، مهارکننده آلفاگلوکوزیداز، تیازولیدین دیون ها، سولفونیل اوره ها، مهارکننده دی پپتیدیل پپتیداز ۴، مهارکننده

هم انتقالی سدیم-گلوکز، مگلیتینیدها و اورلیستات استفاده کرد. در برخی موارد دیابت نوع ۱، می توان از پیوند پانکراس بهره جست (۵۲).

۱-۲-۱. ژل رویال

طبیعت ایران حاوی مواد ارزشمند ناشناخته فراوانی است. با توجه به تنوع زیست بوم و گیاهان در ایران و بخصوص بومی بودن برخی از آنها، در این تحقیق برآن هستیم تا اثرات ژل رویال را در مدل حیوانی بررسی نماییم. یکی از فراورده زنبور عسل ژل رویال Royal jelly است. که به آن شاه انگبین، شیر زنبور عسل، شهد شاهانه و غذای ملکه هم می گویند. این ماده بسیار مغذی و نیرو بخش، در واقع به عنوان غنی ترین ماده مغذی بیولوژیک شناخته شده و از گذشته ای دور به عنوان اکسیر جوانی و مایه حیات در طب باستان استفاده می شده و اکنون نیز در کشورهای پیشرفته جهان استفاده طبی از آن بر پایه تحقیقات دانشمندان در دانشگاه ها و موسسه های تحقیقاتی معتبر رایج است. این ماده از دو جفت غده هیپوفارین موجود در طرف سر زنبوران کارگر جوان (۶-۱۲ روزه) ترشح می شود و با بزاق دهان آنها مخلوط می گردد. این ژل خمیری شکل با رنگ تقریبا سفید تا زرد کم رنگ و طعمی تند و زننده است. این ماده مغذی تا سه روز مورد استفاده همه لاروها قرار می گیرد ولی زنبور ملکه به طور دائم از این ماده تغذیه می شود (۵۳). ژل رویال غذای ضروری برای لاروهای جوان زنبور عسل و ملکه می باشد. این ماده نقش مهمی در تغذیه ملکه دارد (۵۴). ژل رویال ماده لزجی است که توسط غدد هیپوفارنکس و تحت فکی زنبورهای کارگر جوان (*Apis mellifera*)، از جنس نر ترشح می شود (۵۵). همچنین نشان داده شده که ژل رویال دارای انواع فعالیت های بیولوژیکی مختلف در سلول ها و بافت های مختلف مدل های حیوانی می باشد (۵۴).

۱-۲-۲. ترکیبات ژل رویال

ژل رویال بطور عمده از پروتئین ها، قندها، چربی ها (شامل استرول ها و اسیدهای چرب) و مقادیر ناچیزی از نمک های معدنی و ویتامین ها تشکیل شده است (۵۶).

۱-۲-۲. اثرات مفید ژل رویال

مشخص شده است که این مواد فعالیت های فارماکولوژیکی متفاوتی از قبیل خواص ضدتوموری، ضد میکروبی، اتساع دهنده عروق، کاهش دهنده فشار خون و همچنین تحریک کننده رشد، و مقاومت در مقابل عفونت ها، ضد هایپرکلسترولمی و فعالیت های ضدالتهابی، نشان می دهد. به همین دلیل بیش از ۳۰ سال است که ژل رویال برای استفاده های تجاری در تولیدات دارویی، غذاهای مقوی و لوازم آرایشی بکار می رود (۵۷). ژل رویال باعث تمایز انواع سلول های مغزی شامل نورون ها (NS/NPCs) از سلول های بنیادی پیش ساز عصبی (DG) می شود (۵۴). ژل رویال و یا ترکیباتش نورونز را در ناحیه هیپوکامپ تسهیل می کند (۵۸ و ۵۹). بنابر مطالب ذکر شده این ماده احتمالاً بتواند اختلالات درد ناشی از دیابت را کاهش دهد. اکثر مطالعاتی که تاکنون انجام شده بصورت مولکولی و بیوشیمیایی بوده و کمتر به جنبه های رفتاری توجه شده است، بنابراین هدف ما در این تحقیق، بررسی اثرات ژل رویال بر درد القا شده با فرمالین در موش صحرایی نر بالغ دیابتی شده خواهد بود.

۱-۳-۱. درد

درد به عنوان مهمترین کیفیت حسی در انسان بشمار می رود و انسان را از تحریکات تخریبی در ارگانیزم مطلع ساخته و موجب مراجعه به پزشک می شود. برای پزشک هم وجود درد برای تشخیص محل تحریک های تخریبی اهمیت دارد. بسیاری از بیماری های بدن باعث درد می شوند. به علاوه تشخیص انواع مختلف بیماری ها تا حد زیادی به دانش پزشک درباره کیفیت های مختلف درد وابسته است. بنابراین می توان گفت که درد یکی از مکانیسم های محافظتی است (۶۰).

۲-۳-۱. فیزیولوژی حس درد

هرگاه یکی از بافت ها تخریب شوند درد ایجاد می شود و همین باعث می شود که فرد برای برطرف کردن محرک درد واکنش مناسب را انجام دهد . حتی فعالیت های ساده ای نظیر نشستن طولانی مدت بر روی برجستگی های نشیمن گاه می تواند باعث تخریب بافتی شود . زیرا باعث کمبود جریان خون پوستی در نقاط تحت فشار ناشی از وزن بدن می شود . هنگامی که پوست در نتیجه کاهش خونرسانی دردناک می شود شخص به طور طبیعی و ناخودآگاه تغییر وضعیت می دهد ولی شخصی که فاقد حس درد است (مثلا پس از آسیب نخاعی) درد را حس نکرده و بنابراین تغییر حالت نمی دهد و این حالت باعث می شود که خیلی زود پوست در نقاط تحت فشار دچار تخریب و پوسته ریزی شود (۶۰).

۳-۳-۱. برخی از انواع درد

پردردی: گاهی یک مسیر عصبی درد به شدت تحریک پذیر می شود. این پدیده باعث ایجاد پردردی می شود که خود نوعی افزایش حساسیت نسبت به گیرنده های درد و همچنین تسهیل در انتقال حس درد می باشد (۶۰).

هرپس زوستر (زونا): ویروس هرپس یک گانگلیون ریشه خلفی را عفونی می کند. علت درد احتمالا التهاب ناشی از عفونت ویروسی سلول های نورونی درد در گانگلیون ریشه خلفی است (۶۱).

تیک دردناک: گاهی نوعی درد نیشتری بر روی یک طرف صورت برخی از افراد و در حوزه حسی اعصاب پنجم یا نهم مغزی ایجاد می شود که به آن تیک دردناک یا نورالژی سه قلو می گویند (۶۲).

سندرم براون-سکوارد: وقتی نخاع به طور کامل قطع می شود کلیه عملکردهای حسی و حرکتی قسمت پایین تر از محل قطع شدگی از بین می رود ولی اگر تنها یک نیمه نخاع قطع شود این سندرم رخ می دهد و کلیه

عملکردهای حرکتی و حس موقعیت و ارتعاش در سمت نخاع و حس درد و حرارت در سمت مقابل در کلیه قطعات پایین تر از محل قطع شدگی از بین می روند (۶۳).

سردرد: سردرد یک نوع درد ارجاعی به سطح سر است که از ساختارهای عمقی سر منشأ می گیرد. برخی سردردها از محرک های درد در درون حفره جمجمه ناشی می شوند ولی برخی از دردهای خارج جمجمه ای منشأ می گیرند نظیر سردردهای ناشی از سینوس های بینی (۶۴).

۴-۳-۱. روش های ارزیابی درد

جهت ارزیابی درد چندین نوع مقیاس درد وجود دارد که در ذیل به توضیح آن ها می پردازیم.

مقیاس عددی نرخ بندی درد (NRS): این مقیاس درد از بقیه متداول تر است. شخص درد خود را با استفاده از یک مقیاس ۰ تا ۱۰ یا ۰ تا ۵ نرخ بندی می کند. صفر به معنی بدون درد و ۵ یا ۱۰ به معنی بدترین وضعیت درد است.

مقیاس آنالوگ بصری (VAS): این مقیاس درد نشان دهنده یک خط ۱۰ سانتی متری چاپ شده بر روی یک تکه کاغذ است با نشانگرهایی در هر انتها. در یک انتها بدون درد و در انتهای دیگر بدترین درد است. شخص یک علامت ضربدر روی خط برای نشان دادن شدت درد خود می گذارد. بعد یک پزشک خط را با یک خط کش اندازه می گیرد تا نمره درد را بدست آورد.

مقیاس طبقه بندی: در این مقیاس افراد حساسیت دردشان را با استفاده از توصیف کلامی و بصری نشان می دهند. مانند خفیف و یا ناراحت کننده و مضطرب کننده یا وحشتناک. برای کودکان معمولاً مقیاس های درد با استفاده از تصاویر چهره ها استفاده می شود. یک کودک ممکن است با تصاویری از هشت صورت مختلف با عبارات مختلف درد خود را اظهار کند. کودک چهره ای را انتخاب می کند که احساس می کند بیشتر با سطح درد فعلی خود سازگار است.

ابزار ارزیابی درد اولیه: این مقیاس درد شامل استفاده از یک نمودار کاغذی است. در این نمودار یک بدن نشان داده می شود که شخص می تواند محل درد خود را مشخص کند و همچنین مقیاسی برای نرخ گذاری شدت درد و فضایی برای نظرات بیشتر در نظر گرفته شده است.

پرسش نامه درد مک گیل (MPQ): این مقیاس درد به شکل پرسش نامه است و درد شخص را بر اساس کلماتی که برای توصیف دردتان استفاده می کنند ، ارزیابی می کند (۶۵).

۶-۳-۱. روش ارزیابی درد تجربی با فرمالین

تست فرمالین یک روش ارزشمند و مدل مناسب برای سنجش و ارزیابی درد مداوم و پایدار ناشی از یک محرک شیمیایی می باشد و از سوی دیگر می توان اثرات درد حاد را نیز در طی فاز اول این تست بررسی کرد. در این تست به منظور مشاهده و بررسی رفتارهای حیوان، از یک محفظه شفاف با کف مسطح، به ابعاد $30 \times 30 \times 30$ و از جنس Plexiglass استفاده خواهد شد. برای مشاهده پنجه پای حیوان، در زیر این محفظه شفاف ، آئینه ای تعبیه شده است و به همین علت درد حاصله، درد آئینه ای نامیده می شود. در این تست، ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۲ درصد به زیر پوست پنجه پای حیوان توسط یک سر سوزن نمره ۳۰ تزریق خواهد شد. به دنبال تزریق فرمالین، حیوان مجموعه ای از رفتارهای القاء شده با فرمالین و رفتارهای خودبخودی را نشان می دهد. رفتارهای القا شده بر اثر تزریق فرمالین شامل: Licking (مدت زمانی که حیوان پنجه پای را که فرمالین به آن تزریق شده است، را می لیسد یا گاز می گیرد)، Flexing (مدت زمانی که حیوان پنجه پای را که فرمالین به آن تزریق شده است، را بالاتر از کف محفظه نگه می دارد)، و Paw-Jerk Frequency (تعداد دفعاتی که حیوان پنجه پای را که فرمالین به آن تزریق شده است، رابه طور فزاینده تکان می دهد) می باشد که طی ۶۰ دقیقه هر یک از این رفتارها ثبت می گردند؛ این پاسخ ها در دو مرحله پس از تزریق فرمالین مشاهده می شود فاز اولیه از زمان تزریق تا ۶ دقیقه و فاز ثانویه از ۱۰ دقیقه پس از تزریق تا ۶۰ دقیقه خواهد بود (۴۱).

امتیازدهی: حیوان پای خود را گاز می گیرد یا می لیسد (امتیاز ۳)، حیوان پای خود را کامل از زمین جدا می کند (امتیاز ۲)، حیوان بخشی از پا را از زمین جدا می کند (امتیاز ۱)، حیوان پای خود را بلند نمی کند (امتیاز ۰).

۷-۳-۱. روش های رایج کاهش درد

برطبق مطالعات صورت گرفته، به منظور درمان درد ناشی از نوروپاتی دیابتی می توان از ضدافسردگی سه حلقه ای و برخی از ضد تشنج ها، گاباپنتین، پیرگابالین و اپیوم استفاده کرد. همچنین از داروهای موضعی مانند کاپساسین، لیدوکائین و سم بوتولینوم می توان برای کاهش درد نوروپاتیک محیطی استفاده کرد (۶۶).

همچنین در مطالعه مروری که در سال ۲۰۱۱ در مورد درمان درد ناشی از نوروپاتی دیابتی انجام شده، بر مصرف داروهایی همچون پیرگابالین به عنوان مؤثرترین، و ونلافاکسین، دولوکستین، آمی تریپتیلین، گاباپنتین، والپروات، کاپساسین و اپیوم ها شامل مورفین سولفات و ترامادول و اکسی کدون تأکید شده است (۶۷).

۴-۱. مروری بر متون و تحقیقات انجام شده:

پورمرادیان و همکاران در سال ۲۰۱۴ تأثیر ژل رویال بر کنترل گلاسیمیک و عوامل استرس اکسیداتیو را در خانم های دارای دیابت تیپ ۲ بررسی کردند. به این صورت که ۵۰ بیمار به طور تصادفی انتخاب کردند و ۲۵ نفر از آنان ژل رویال به میزان ۱۰۰۰ میلی گرم و ۲۵ نفر هم پلاسبو به مدت ۸ هفته دریافت کردند. سپس مشاهده شد که بعد از مصرف ژل رویال میزان قند ناشتایی و سطح هموگلوبین گلیکوزیله و عوامل استرس اکسیداتیو کاهش و میزان انسولین سرم افزایش پیدا کرده است (۶۸).

پورمرادیان و همکاران در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۲ تأثیر ژل رویال بر وزن بدن و مصرف مواد غذایی را در خانم های دارای دیابت تیپ ۲ بررسی کردند. ۵۰ بیمار به طور تصادفی انتخاب شدند و ۲۵ نفر از آنان ۱۰۰۰ میلی گرم ژل رویال و ۲۵ نفر دیگر پلاسبو دریافت کردند. در آخر مشاهده کردند که میزان وزن بدن پس از مصرف ژل رویال کاهش و پس از مصرف پلاسبو افزایش یافت. همچنین پس از مصرف ژل رویال میزان مصرف

انرژی تام روزانه و کربوهیدرات کاهش و پس از مصرف پلاسبو میزان مصرف انرژی تام روزانه و مصرف چربی افزایش یافت (۶۹).

سیاوش و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه ای تأثیر ژل رویال موضعی روی زخم پای دیابتی را بررسی کردند. بیماران دارای زخم پای دیابتی که به بیمارستان خورشید اصفهان مراجعه کردند هفته ای سه بار ژل رویال ۵٪ بر روی زخمها مالیده و سپس توسط پوشش استریل پوشانده شد و این کار تا حداقل ۳ ماه انجام شد و هربار زخم از نظر عفونت و پیشرفت عروقی و دبریدمان (در صورت نیاز) مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع ۸ زخم مورد ارزیابی قرار گرفت که از این بین ۷ زخم پس از مصرف ژل رویال بهبود کامل پیدا کردند. زخم دیگر با توجه به عدم بهبود کامل ولی کاهش قابل توجهی در اندازه داشت. نتیجه مطالعه این شد که ژل رویال می تواند به عنوان یکی از روش های درمان زخم پای دیابتی بکار رود (۷۰).

شیدفر و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مطالعه ای بر روی تأثیر ژل رویال روی مقامات انسولین و استرس اکسیداتیو در بیماران دارای دیابت تیپ ۲ تحقیق کردند به طوری که از ۴۶ بیماری که به طور تصادفی انتخاب شدند گروهی ۱۰۰ میلی گرم ژل رویال و گروهی پلاسبو دریافت کردند. در آخر نتیجه گرفتند که آنتی اکسیدانها پس از مصرف ژل رویال افزایش یافتند ولی تفاوتی در سطح انسولین پیدا نشد (۷۱).

پاول و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی تأثیرات ژل رویال تحقیق کردند. در آخر نتیجه گرفتند ژل رویال می تواند برآنتی اکسیدانها و چربی و قند خون تأثیر بگذارد و می تواند عامل محافظت کننده برای کبد باشد (۷۲).

اصلان و همکاران در سال ۲۰۱۲ تأثیر ژل رویال بر روی آسیب ثانویه عصبی ایجاد شده به دنبال آسیب طناب نخاعی را بر روی موش ها بررسی کردند. در این مطالعه ۲۱ موش به ۳ گروه تقسیم شدند و روی گروه اول هیچ مداخله درمانی صورت نگرفت و به یک گروه علاوه بر لامینکتومی ۱ سی سی بر کیلوگرم وزن بدن سالین خوراکی داده شد. گروه دیگر نیز علاوه بر لامینکتومی ۱۰۰ میلی گرم بروزن بدن ژل رویال خوراکی دریافت

کردند و سپس تحت ارزیابی قرار گرفتند که به طور مشخص گروه دریافت کننده ژل رویال بهبود عصبی داشتند (۷۳).

ملکی و همکاران در سال ۲۰۱۸ در یک مطالعه مروری به بررسی تأثیر ژل رویال بر متغیرهای متابولیک پرداختند. در این مطالعه از بین ۵۱۲ مقاله انجام شده تا ژوئن ۲۰۱۸، ۱۲ مطالعه واجد شرایط انتخاب شدند که در همه آنها به طور مشخص ثابت شده که ژل رویال بر بهبود قند خون ناشتا و هموگلوبین گلیکوزیله و پروفایل چربی در افراد دیابتی تأثیر دارد (۷۴).

امانی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی تأثیرات محافظت کننده ژل رویال و روغن جگرماهی بر روی آسیب عصبی ناشی از تارترازین (نوعی رنگ مصنوعی موجود در داروها و غذاها) در موش ها مطالعه کردند. در آخر مشخص شد که گروه هایی که ژل رویال و همچنین روغن جگرماهی مصرف کردند از اثرات عصبی تارترازین در امان ماندند (۷۵).

نوشین فر در سال ۲۰۰۳ در مطالعه ای به این نتیجه رسید که دیابت موجب افزایش درد ناشی از فرمالین در موش های صحرایی می شود. همچنین داروی باکلوفن می تواند دردهای ناشی از نوروپاتی دیابتی را کاهش دهد (۷۶).

خلیلی و همکاران در سال ۲۰۰۵ با انجام مطالعه ای به این نتیجه رسیدند که واکنش به درد حاد و مزمن ناشی از صفحه داغ و فرمالین به دنبال مصرف استرپتوزوتوسین و دیابتی شدن موش های صحرایی به میزان معناداری افزایش می یابد. همچنین عصاره الکلی بذر گیاه تاتوره در دوزهای بالای ۵۰ میلی گرم بر وزن بدن توانایی کاهش درد حاد افزایش یافته در آزمون های صفحه داغ و فرمالین را دارا می باشد (۷۷).

روغنی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه ای نشان دادند که تجویز خوراکی قره قاط سیاه موجب کاهش معنی دار شدت درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در مدل تجربی دیابت قندی القاشده توسط استرپتوزوتوسین می شود و بر آستانه درد حرارتی تأثیر ندارد (۷۸).

بابایی و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مطالعه ای نشان دادند که استرس اکسیداتیو در بروز درد در دیابت دخیل است و ملاتونین به عنوان آنتی اکسیدان قادر به کاهش درد در هردو مرحله حاد و مزمن در حیوانات مبتلا به دیابت است (۷۹).

نصری و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه ای دریافتند که مصرف عصاره هیدروالکلی گیاه سعدکوفی موجب افزایش تحمل درد حرارتی و کاهش احساس درد شیمیایی در مدل تجربی دیابت قندی می شود و شاید بتواند به عنوان یک درمان کمکی در هیپرآلژزی دیابتی مطرح شود (۸۰).

تمتاجی و همکاران در سال ۲۰۱۵ دریافتند که عصاره آبی سنجد درد نوروپاتی دیابتی را در موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بهبود می بخشد (۸۱).

روغنی و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان کردند که تجویز خوراکی میوه گیاه فلفل موجب کاهش چشمگیر میزان احساس درد در مدل تجربی دیابت قندی القاشده با استرپتوزوتوسین می گردد (۸۲).

روغنی و همکاران در سال ۲۰۱۱ با انجام مطالعه ای به این نتیجه دست یافتند که تجویز خوراکی برگ سیرکوهی موجب کاهش معنی دار شدت درد در مرحله مزمن آزمون فرمالین در مدل تجربی دیابت قندی القاشده با استرپتوزوتوسین می شود و بر درد حرارتی تأثیر ندارد و در این اثر ضددردی احتمالاً اثر ضدالتهابی گیاه در نواحی محیطی بدن دخالت دارد (۸۳).

فصل دوم

اهداف

و

فرضیات

الف-هدف اصلی:

تعیین اثر تجویز طولانی ژل رویال بر دردالقا شده با فرمالین در موش صحرایی نر بالغ دیابتی

ب-اهداف فرعی:

تعیین اثر ژل رویال بر درد در فاز حاد فرمالین

تعیین اثر ژل رویال بر درد در فاز مزمن فرمالین

ج-اهداف کاربردی :

با مشخص شدن اثر ژل رویال در موش صحرایی، درآینده از مواد موثر آن برای بهبود استفاده خواهد شد. البته برای بررسی و تعیین اثرات درمانی آن لازم است مطالعات بیشتری صورت گیرد.

د-فرضیه ها پژوهش:

ژل رویال موجب پیشگیری از اختلالات درد ناشی از دیابت می شود.

فصل سوم

مواد

و

روش کار

۳-۱. مواد و روش های مورد استفاده:

۳-۱-۱. وسایل و مواد مورد نیاز برای اتاق حیوانات:

الف) قفس پلی کربنات ب) شیشه آب خوری ج) پوشال تمیز د) مواد و محلول های لازم: جهت ضد عفونی و شست و شوی قفس ها، شیشه های آب خوری و اتاق حیوانات از قبیل پنبه، الکل، ساوین و مواد شوینده. ه) پلیت آماده غذای موش و) دماسنج جهت کنترل دمای اتاق. ز) رطوبت سنج جهت کنترل رطوبت. ح) زمان سنج جهت تامین ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در اتاق حیوانات. ط) موش: موش صحرایی نر و ماده به وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم.

۳-۱-۲. وسایل و مواد مورد نیاز برای ایجاد دیابت و انجام آزمون

رسترنر برای بی حرکتی، قفس مخصوص برای انجام آزمون، حیوان آزمایشگاهی، غذای موش
سرنگ انسولین، گلیبن کلامید، سرنگ و سوزن گاوژ و ژل رویال

۳-۲. محل و نحوه انجام آزمایش

این مطالعه تجربی در سال ۹۵-۱۳۹۷ در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام گرفت. روش کار این تحقیق بر اساس قوانین بین المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی، و تصویب کمیته اخلاق دانشگاه بود. موش های صحرایی بالغ نر نژاد ویستار از انستیتو پاستور کرج در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم خریداری شدند و در اتاق حیوانات در شرایط دوره ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۴۵-۵۵ درصد و در قفس های چهارتایی نگهداری شدند. در طول مدت دوره تحقیق، حیوانات به صورت نامحدود از غذای تهیه شده از کارخانه خوراک پارس دام تهران و آب آشامیدنی شهری استفاده کردند.

۳-۳. گروه های آزمایش

گروه بندی حیوانات: در این پژوهش ۴۸ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار به طور تصادفی در ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند شامل: ۱) گروه کنترل ۲) گروه دیابتی بدون درمان ۳) گروه دیابتی دریافت کننده داروی گلی بن کلامید با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم . ۴) گروه دیابتی دریافت کننده ژل رویال با دوز ۵۰ میلی گرم/کیلو

گرم (۵) گروه دیابتی دریافت کننده ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلو گرم (۶) گروه دیابتی دریافت کننده ژل رویال با دوز ۲۰۰ میلی گرم/کیلو گرم.

موش ها به مدت یک هفته در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۴۵-۵۵٪ و دمای بین ۲۰-۲۵ °C نگهداری شدند. حیوانات گروه ۳ بمدت ۳۰ روز داروی گلی بن کلامید و گروه های ۴، ۵ و ۶ نیز به مدت ۳۰ روز ژل رویال از طریق گاوژ از زمان ایجاد دیابت دریافت کردند.

۳-۴. دیابتی کردن حیوانات :

جهت القاء دیابت در موش ها از محلول تازه تهیه شده استرپتوزوتوسین استفاده شد. این ماده به مقدار ۶۰ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان بصورت محلول در بافر سیترات سدیم (۰,۰۱ μ۰۰۴:PH) که بعد از ۱۲ ساعت پرهیز غذایی، به صورت تزریق تک دوز و داخل صفاقی به هر حیوان تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از تزریق STZ، نمونه خون از ورید مارژینال دمی گرفته شد و فقط حیواناتی با سطح گلوکز خون ۲۰۰ mg/dl یا بالاتر به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. در آغاز روز دوم پس از تزریق STZ، توجه ویژه ای به موش ها می شد زیرا در اثر تخریب سلول های β جزایر لانگرهانس، مقدار زیادی انسولین آزاد شده و باعث ایجاد شوک هیپوگلیسمی می شود که جهت رفع این مشکل، محلول گلوکز ۱۰٪ به میزان ۱ میلی لیتر به حیوانات گاوژ می شد. جهت جلوگیری از دهیدراته شدن حیوانات دیابتی، محلول ۰,۰۴۵ درصد آب نمک در طول مدت مطالعه به جای آب در اختیار موش ها گذاشته می شد.

۳-۵. آزمون فرمالین

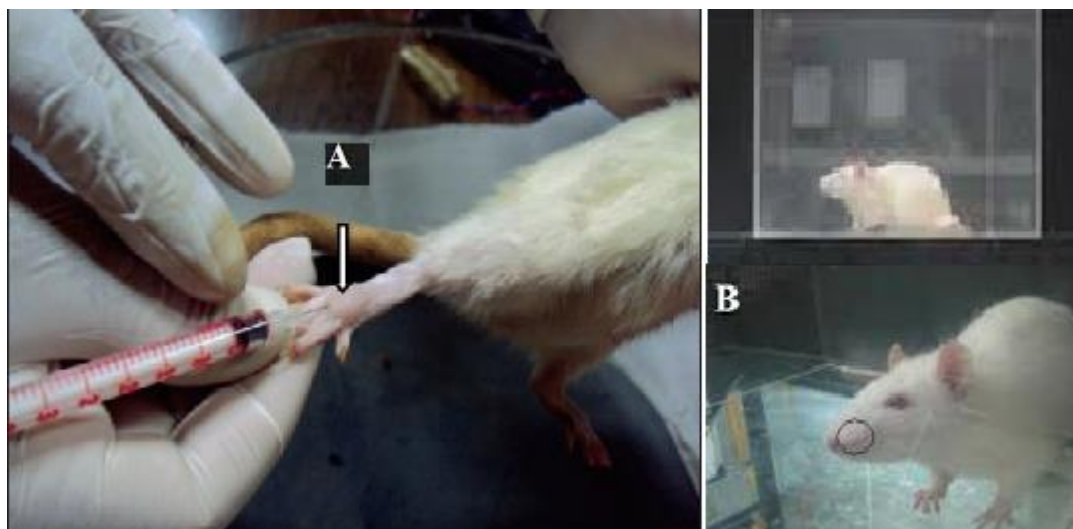
در روز اول پس از اتمام دوره ۳۰ روزه دیابتی شدن و تغذیه حیوانات با ژل رویال یا دارو یا حلال، بین ساعات ۹ تا ۱۲ صبح، در آزمایشگاه تحت شرایط استاندارد آزمون درد تست فرمالین بعمل آمد. تست فرمالین یک روش ارزشمند و مدل مناسب برای سنجش و ارزیابی درد مداوم و پایدار ناشی از یک محرک شیمیایی می باشد. به منظور مشاهده و بررسی رفتار های حیوان، از یک محفظه شفاف با کف مسطح، به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ و از جنس Plexiglass استفاده شد. ۵۰ میکرولیتر محلول فرمالین ۲ درصد به زیر پوست پنجه پای حیوان توسط یک سر سوزن نمره ۳۰ تزریق شد. به دنبال تزریق فرمالین، حیوان مجموعه ای از رفتارهای القاء شده با فرمالین و رفتارهای خودبخودی را نشان می دهد که طی ۶۰ دقیقه هر یک از این رفتارها ثبت گردید؛ این پاسخ ها در دو مرحله پس از تزریق فرمالین مشاهده شد. فاز اولیه از زمان تزریق تا ۶ دقیقه (حاد) و فاز ثانویه از ۱۰ دقیقه پس از تزریق تا ۶۰ دقیقه (مزمن) بود.

۳-۶. جامعه مورد مطالعه و روش نمونه گیری

روش نمونه گیری انتخاب ۸ سر موش نر بطور تصادفی در محدوده وزنی ۲۵۰ گرم برای هر گروه بود. حجم نمونه ها با توجه به تحقیقات انجام شده در این زمینه در نظر گرفته شد.

۳-۷. روش جمع آوری و تجزیه و تحلیل داده ها

اطلاعات جمع آوری شده از گروه های آزمایشی مختلف، با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۹ و آنالیز واریانس یک طرفه One-Way ANOVA انجام گردید. برای این منظور اطلاعات خام هر گروه آزمایشی به صورت متوالی وارد و انحراف معیار استاندارد تعیین شد و اختلاف بین گروه ها توسط LSD به صورت مجزا تعیین گردید و $P < 0.05$ به عنوان شاخص معنی دار بودن مطرح گردید.



شکل ۱-۳. روش تست فرمالین

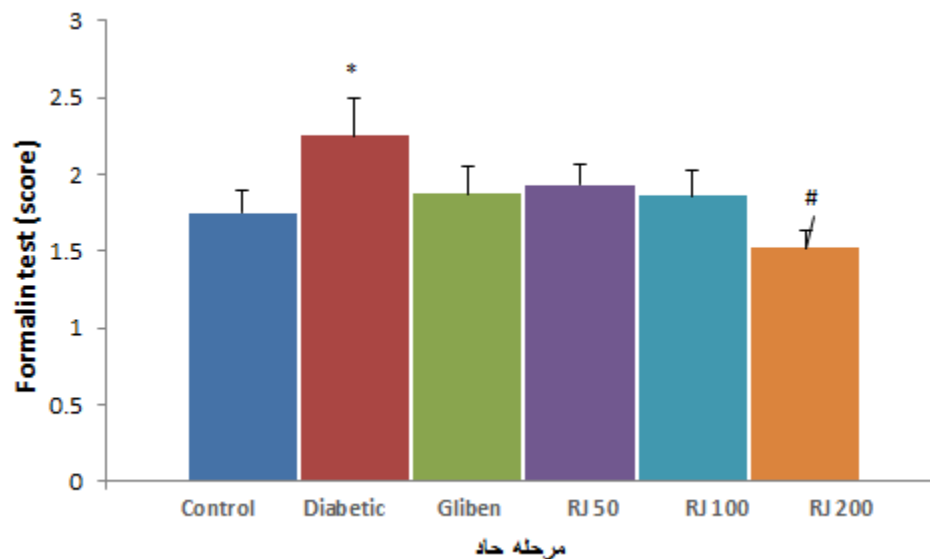
فصل چهارم

یافته ها

در این مطالعه تاثیر دیابت بر درد و اثر ژل رویال بر آن بررسی شد. نتایج حاصل از این مطالعه بصورت ۴ نمودار نمایش داده شده است.

۴-۱. مقایسه تاثیر دیابت بر درد و اثر ژل رویال در گروه های مورد مطالعه در فاز حاد:

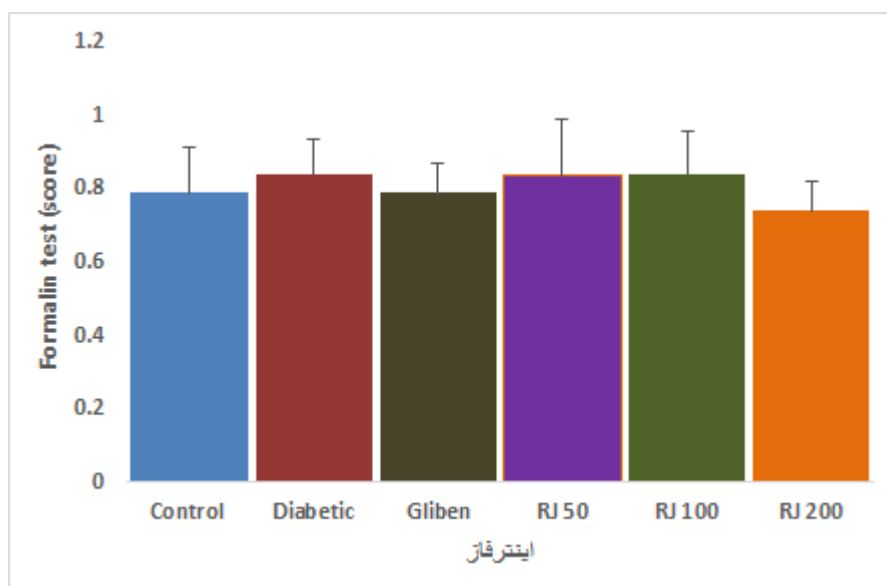
نتایج بدست آمده نشان داد که بدنبال دیابتی شدن حیوانات تغییرات آستانه درد آغاز می شود و در کوتاه مدت بصورت کاهش آستانه درد و هیپرالژزی می باشد که در گروه ۲ یعنی دیابت درمان نشده نسبت به گروه ۱ یعنی کنترل، قابل مشاهده هست ($p < 0.05$). مصرف گلیبن کلامید یا ژل رویال موجب کاهش درد ناشی از دیابت می شود که این کاهش در دوز ۲۰۰ ژل رویال معنی دار می باشد ($p < 0.05$) (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه میانگین احساس درد در گروه های مورد مطالعه در فاز حاد آزمون فرمالین: همانطوری که در نمودار نشان داده شده است دیابت موجب افزایش درد در فاز حاد می شود مصرف ژل بویژه در دوز ۲۰۰ باعث کاهش معنی دار در حیوانات دیابتی می شود. $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.05$ # در مقایسه با گروه دیابت درمان نشده

۴-۲. مقایسه تاثیر دیابت بر درد و اثر ژل رویال در گروه های مورد مطالعه در اینترفاز :

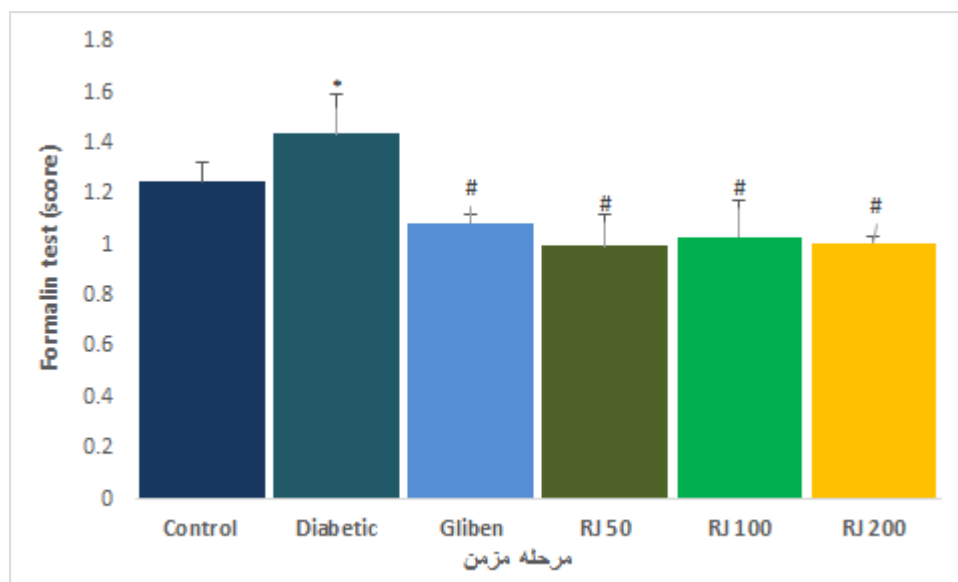
نتایج مقایسه میانگین احساس درد در گروه های مورد مطالعه در فاز میانی آزمون فرمالین نشان داد که تفاوت معنی داری بین میانگین میزان درد در بین گروه های آزمون و گروه کنترل در این فاز وجود ندارد و میزان درد حیوانات در گروه ها تقریباً یکسان می باشد و این بدین معنی است که دیابت بروی این مرحله از تست فرمالین اثری ندارد. (نمودار ۲)



نمودار ۲- . مقایسه میانگین احساس درد در گروه های مورد مطالعه در فاز میانی آزمون فرمالین: همانطوری که در نمودار نشان داده شده است تفاوت میانگین میزان درد در این فاز در بین گروه ها چشمگیر نمی باشد.

۳-۴. مقایسه تاثیر دیابت بر درد و اثر ژل رویال در گروه های مورد مطالعه در فاز مزمن:

یافته های بدست آمده نشان داد که با دیابتی شدن حیوانات آستانه درد مزمن کاهش یافته و در این مرحله نیز افزایش درد و هیپرآلژزی در گروه ۲ یعنی دیابت درمان نشده نسبت به گروه ۱ یعنی کنترل قابل مشاهده هست ($p < 0.05$). مصرف گلیبن کلامید یا ژل رویال موجب کاهش درد ناشی از دیابت می شود که این کاهش در همه گروه های درمان با گلیبن کلامید یا ژل رویال معنی دار می باشد ($p < 0.05$) (نمودار ۳).

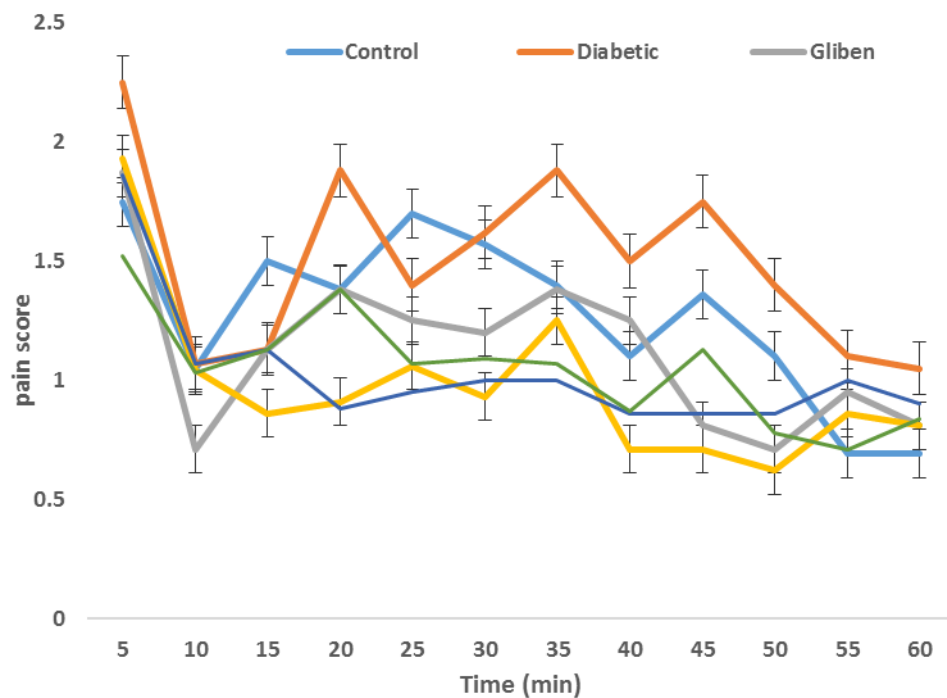


نمودار ۳-۴. مقایسه میانگین احساس درد در گروه های مورد مطالعه در فاز مزمن آزمون فرمالین: همانطوری که در نمودار مشاهده می شود دیابت موجب افزایش درد در فاز مزمن شده و مصرف ژل رویال در هر سه دوز و نیز گلیبن کلامید باعث کاهش معنی دار هیپر آلژزی و درد در حیوانات دیابتی می شود. $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.05$ # در مقایسه با گروه دیابت درمان نشده.

۴-۴. مقایسه تاثیر دیابت، گلیبن کلامید و ژل رویال بر درد در گروه های مورد مطالعه در هر سه فاز

آزمون فرمالین در گروه های مورد مطالعه:

نتایج حاصله نشان می دهد که دیابت در کوتاه مدت (یک ماه) موجب بروز هیپرالژزی در فاز اول و دوم تست فرمالین در موش های صحرایی بدون درمان می شود و مصرف گلیبن کلامید یا ژل رویال می تواند بطور معنی داری از بروز هیپرالژزی ناشی از دیابت جلوگیری کند. (نمودار ۴).



نمودار ۴- مقایسه میزان درد در گروه های مورد مطالعه در بازه زمانی ۶۰ دقیقه آزمون فرمالین: همانطوری که در نمودار نشان داده شده است دیابت موجب هیپرالژزی در موش ها می شود و مصرف گلیبن کلامید یا ژل رویال می تواند بطور معنی داری از این عارضه جلوگیری کند.

فصل پنجم

بحث

و

نتیجه گیری

در این مطالعه تاثیر دیابت بر درد و درمان با گلیبن کلامید و ژل رویال با آزمون فرمالین بررسی شد. نتایج حاصله نشان می دهد که دیابت کوتاه مدت (در بازه حدود یک ماه) موجب بروز هیپرالژزی هم در فاز اول و هم در فاز دوم تست فرمالین در موش ها می شود و مصرف گلیبن کلامید یا ژل رویال می تواند بطور معنی داری مانع بروز هیپرالژزی ناشی از دیابت در هر دو فاز بویژه مرحله مزمن شود و اثر ژل رویال در این بررسی وابسته به دوز بود. نتایج آزمون رفتاری ما هم جهت و تایید کننده تحقیقات قبلی در این زمینه است. در همین راستا مطالعات متعددی در مورد اثر دیابت بر روی رفتارهای طبیعی وجود دارد که نتایج اغلب آن مشابه یافته های ما بوده و بر نقش منفی دیابت بر ساختار و عملکرد سیستم عصبی تاکید می کند که در ذیل به مهمترین آن ها اشاره می کنیم:

پورمرادیان و همکاران در سال ۲۰۱۴ تأثیر ژل رویال بر کنترل گلیسمیک و عوامل استرس اکسیداتیو را در خانم های دارای دیابت تیپ ۲ بررسی کردند. مشاهده شد که بعد از مصرف ژل رویال میزان قند ناشتایی و سطح هموگلوبین گلیکوزیله و عوامل استرس اکسیداتیو کاهش و میزان انسولین سرم افزایش پیدا کرده است (۶۸).

پورمرادیان و همکاران در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۲ تأثیر ژل رویال بر وزن بدن و مصرف مواد غذایی را در خانم های دارای دیابت تیپ ۲ بررسی کردند. در آخر مشاهده کردند که میزان وزن بدن پس از مصرف ژل رویال کاهش و پس از مصرف پلاسبو افزایش یافت. همچنین پس از مصرف ژل رویال میزان مصرف انرژی تام روزانه و کربوهیدرات کاهش و پس از مصرف پلاسبو میزان مصرف انرژی تام روزانه و مصرف چربی افزایش یافت (۶۹).

منصور سیاوش و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه ای تأثیر ژل رویال موضعی روی زخم پای دیابتی را بررسی کردند. در مجموع ۸ زخم مورد ارزیابی قرار گرفت که از این بین ۷ زخم پس از مصرف ژل رویال بهبود کامل

پیدا کردند. زخم دیگر با توجه به عدم بهبود کامل ولی کاهش قابل توجهی در اندازه داشت. نتیجه مطالعه این شد که ژل رویال می تواند به عنوان یکی از روش های درمان زخم پای دیابتی بکار رود (۷۰).

شیدفر و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مطالعه ای بر روی تأثیر ژل رویال روی مقامت انسولین و استرس اکسیداتیو در بیماران دارای دیابت تیپ ۲ تحقیق کردند و در آخر نتیجه گرفتند که آنتی اکسیدانها پس از مصرف ژل رویال افزایش یافتند (۷۱).

پاول و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی تأثیرات ژل رویال تحقیق کردند. در آخر نتیجه گرفتند ژل رویال می تواند بر آنتی اکسیدانها و چربی و قند خون تأثیر بگذارد و می تواند عامل محافظت کننده برای کبد باشد (۷۲).
اصلان و همکاران در سال ۲۰۱۲ تأثیر ژل رویال بر روی آسیب ثانویه عصبی ایجاد شده به دنبال آسیب طناب نخاعی را بر روی موش ها بررسی کردند. که به طور مشخص گروه دریافت کننده ژل رویال بهبود عصبی داشتند (۷۳).

ملکی و همکاران در سال ۲۰۱۸ در یک مطالعه مروری به بررسی تأثیر ژل رویال بر متغیرهای متابولیک پرداختند. به طور مشخص ثابت شد که ژل رویال بر بهبود قند خون ناشتا و هموگلوبین گلیکوزیله و پروفایل چربی در افراد دیابتی تأثیر دارد (۷۴).

امانی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی تأثیرات محافظت کننده ژل رویال و روغن جگر ماهی بر روی آسیب عصبی ناشی از تارترازین (نوعی رنگ مصنوعی موجود در داروها و غذاها) در موش ها مطالعه کردند. در آخر مشخص شد که گروه هایی که ژل رویال و همچنین روغن جگر ماهی مصرف کردند از اثرات عصبی تارترازین در امان ماندند (۷۵).

نوشین فر در سال ۲۰۰۳ در مطالعه ای به این نتیجه رسید که دیابت موجب افزایش درد ناشی از فرمالین در موش های صحرایی می شود (۷۶).

بابایی و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مطالعه ای نشان دادند که استرس اکسیداتیو در بروز درد در دیابت دخیل است و ملاتونین به عنوان آنتی اکسیدان قادر به کاهش درد در هردو مرحله حاد و مزمن در حیوانات مبتلا به دیابت است (۷۹).

۱-۴. مکانیسم آسیب زایی دیابت و اثر حفاظتی ژل بر سیستم عصبی و درد

دیابت قندی یک بیماری غیر قابل انتقال است که در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه اتفاق می افتد. این بیماری متابولیک بر تمامی سیستم های بدن، تاثیر می گذارد. هیپرگلیسمی که عمدتاً ناشی از مقاومت به انسولین است، بر متابولیسم لیپیدها، کربوهیدرات ها و پروتئین ها تاثیر می گذارد و می تواند منجر به بیماری های دیگری شود که می توانند پیشرفت کنند. مکانیسم زیربنایی دیابت که به آسیب کمک می کند ترکیبی از افزایش استرس اکسیداتیو و پاسخ التهابی ناخواسته است. این عوامل منجر به فعال سازی رونویسی ژن های پروآپوپتوتیک شده و آسیب سلول های بدن را فعال می کند. دخالت قابل توجهی از سیتوکینهای التهابی، از جمله اینترلوکین $IL-1\beta$ ، $IL-6$ و عامل نکروز تومور، باعث تشدید تجمع محصولات آسیب اکسیداتیو از قبیل مالون دی آلدئید، رنگدانه های فلورسنت و دیون های کنجوگه در سلول ها شده و این تغییرات بیوشیمیایی، بافتی و ماکرومولکولار باعث آسیب در افراد دیابتی می شود (۸۴).

۱. اثر حفاظتی ژل بر سیستم عصبی از طریق مهار آسیب نوروپاتی:

بر اساس مطالعات انجام شده ژل رویال به علت دارا بودن خاصیت تحریک کنندگی رشد سلول های گلیال و سلول های بنیادین عصبی، می تواند از آسیب عصبی جلوگیری کند (۸۵).

مشاهدات نشان می دهند که ژل رویال می تواند سبب کاهش چربی و التهاب ناشی از هیپرلیپیدمی شود. که ممکن است به علت دارا بودن ۱۰ هیدروکسی دکانوئیک اسید (10HDA) باشد (۸۶-۸۸).

مطالعات بیان می کنند که ژل رویال به علت داشتن اثر شبه انسولینی می تواند موجب کاهش سطح قند خون شود (۸۹). در نتیجه می تواند در بهبود نوروپاتی دیابتی موفق باشد.

۲. اثر حفاظتی ژل بر سیستم عصبی از طریق مهار استرس اکسیداتیو

از طرف دیگر مطالعات نشان داده اند که استرس اکسیداتیو در بروز پردردی در دیابت دخیل است و عوامل آنتی اکسیدان قادر به کاهش درد در هردو مرحله حاد و مزمن در حیوانات مبتلا به دیابت از طریق مهار استرس اکسیداتیو هستند (۷۹). ژل رویال به علت داشتن خواص آنتی اکسیدانی می تواند موجب حفاظت نورونها در برابر عوامل اکسیدان شود. ژل رویال به علت داشتن خواص آنتی اکسیدانی، می تواند حتی سبب بهبود نوروپاتی گردد (۶۸، ۷۰ و ۷۱).

۲-۴. نتیجه گیری:

بطور خلاصه اینکه، در مطالعه حاضر مشخص گردید دیابت احتمالاً از طریق تاثیر منفی بر روند ساختمان و عملکرد سیستم عصبی بویژه گیرنده ها، مسیر انتقال و مراکز پردازشی مغز، می تواند اثرات منفی داشته و موجب افزایش رفتار درد گردد. مصرف ژل رویال احتمالاً از طریق مهار التهاب و استرس اکسیداتیو و آسیب نورونی مانع از این عارضه دیابت در کوتاه مدت می شود و ممکن است همین اثر هم در مورد انسان داشته باشد که نیاز به انجام مطالعات بیشتر در این زمینه است. امروزه شیوع دیابت و عوارض آن در درجات مختلف دامن گیر بشر بوده و لذا استفاده از روش های پیشگیری و درمان دیابت توصیه می شود. سازمان بهداشت جهانی دیابت را شایعترین بیماری غدد در جهان می داند که سالانه عامل ۴ میلیون مرگ در جهان است. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی و فدراسیون جهانی دیابت، در حالی که تعداد بیماران دیابتی در سال ۲۰۰۰ میلادی کمتر از ۲۰۰ میلیون نفر بوده است؛ این رقم در سال ۲۰۱۵ به بیش از ۳۸۲ میلیون نفر رسیده و پیش بینی

می‌شود تا سال ۲۰۲۵ بیش از ۳۰۰ میلیون بیمار دیابتی در دنیا وجود داشته باشد و تا سال ۲۰۳۵ این تعداد به رقم ۵۹۲ میلیون نفر برسد (۹۰).

دیابت، اختلال متابولیکی، با عوارض عصبی مانند افسردگی، اضطراب، هیپولوکوموشن، اختلال شناختی، ترس و اضطراب، بی‌اشتهایی، سکته مغزی، درد و غیره همراه است. استفاده از طب سنتی برای مدیریت موثر دیابت شناخته شده است. مطالعات نشان می‌دهد که محصولات طبیعی با کاهش استرس اکسیداتیو و / یا التهاب و یا آپوپتوز در برخی مناطق مغزی، موجب کاهش عوارض ناشی از دیابت می‌شوند. محصولات طبیعی معمولاً بر تغییرات ناشی از دیابت در سطح استیل کولین استراز، کولین استیل ترانسفراز، مونوآمین اکسیداز، گیرنده‌های سروتونین، گیرنده‌های موسکارینی، گیرنده انسولین، فاکتور رشد عصبی، فاکتور رشد نورون مغزی و نوروپاتی‌های مغز اثر می‌کنند. علاوه بر این، گزارش شده است که چندین محصول طبیعی، عوارض دیابت را با مکانیسم ناشناخته کم می‌کنند. در نتیجه، گیاهان دارویی یا متابولیت‌های ثانویه آنها یک دامنه وسیع دارند و دارای توان بالقوه برای درمان بیماری‌های عصبی مرتبط با دیابت مزمن هستند (۹۱).

۳-۵. پیشنهادات:

۱. مطالعات بیشتری در جهت شناخت مکانیسم زیربنایی برای اختلالات عصبی در دیابت صورت گیرد.
۲. مطالعات بیشتر در مورد اثر ژل در دیابت مزمن و دراز مدت با مدل حیوانی صورت گیرد.
۳. مطالعات بیشتر در مورد اثر ژل بر نورون‌ها و سلول‌های گلیال در حیوانات صورت گیرد.

فصل ششم:

منابع

1. Kucukatay V, Ağar A, Gumuslu S, Yargıçoğlu P. Effect of sulfur dioxide on active and passive avoidance in experimental diabetes mellitus: relation to oxidant stress and antioxidant enzymes. *Int J Neurosci* 2007; 117(8):1091-107.
2. Artola A, Kamal A, Ramakers GM, Biessels GJ, Gispen WH. Diabetes mellitus concomitantly facilitates the induction of longterm depression and inhibits that of long-term potentiation in hippocampus. *Eur J Neurosci* 2005; 22(1):169-78.
3. Lupien SB, Bluhm EJ, Ishii DN. Systemic insulin-like growth factor-I administration prevents cognitive impairment in diabetic rats, and brain IGF regulates learning/memory in normal adult rats. *J Neurosci Res* 2003; 74(4):512-23.
4. Reske-Nielsen E, Lundbaek K, Rafaelsen O. Pathological changes in the central and peripheral nervous system of young long-term diabetics. *Diabetic Encephalopathy. Diabetologia* 1965; 1:233-41.
5. Di Luca M, Ruts L, Gardoni F, Cattabeni F, Biessels GJ, Gispen WH. NMDA receptor subunits are modified transcriptionally and post-translationally in the brain of streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 1999; 42(6):693-701.
6. Harrison's Principles of Internal Medicine/20th edition/McGrawHill/2015/2851-51.
7. Van Belle TL, Coppieters KT, Von Herrath MG. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiol Rev.* 2011; 91:79-118.
8. Newsholme EA, Dimitriadis G. Integration of biochemical and physiologic effects of insulin on glucose metabolism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2001; 109(2): 34-122.
9. Kiess W, Böttner A, Raile K, Kapellen T, Müller G, Galler A, Paschke R, Wabitsch M. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents: a review from a European perspective. *Horm Res* 2003; 59(1): 77-84.
10. Florez JC. Clinical review: the genetics of type 2 diabetes: a realistic appraisal in 2008. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93:4633-4642.
11. Type 2 diabetes in children and adolescents. American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 2000; 23: 381-389.
12. Rosenbloom AL, Silverstein JH, Amemiya S, Zeitler P, Klingensmith GJ. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2006-2007. Type 2 diabetes mellitus in the child and adolescent. *Pediatr Diabetes.* 2008; 9: 512-526.
13. Arslanian SA. Type 2 diabetes mellitus in children: pathophysiology and risk factors. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2000; 13 (6): 1385-1394.

14. Roth CL, Reinehr T. Roles of gastrointestinal and adipose tissue peptides in childhood obesity and changes after weight loss due to lifestyle intervention. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2010; 164: 131-138.
15. Harrison's Principles of Internal Medicine/20th edition/McGrawHill/2015/2870-82.
16. Booya F, Larijani B, Pajouhi M, Lotfi J, Nourraei MM, Bandarian F. Peripheral neuropathy in diabetic patients and its effective factors. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid*. University of Tehran. 2003; 3: 41-46.
17. Hunt D. Using evidence in practice. Foot care in diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2002; 31: 603-11.
18. Booya F, Bandarian F, Larijani B, Pajouhi M, Nooraei M, Lotfi J. Potential risk factors for diabetic neuropathy: a case control study. *BMC Neurol*. 2005; 5: 24.
19. Dyck PJ, Thomas PK. Diabetic neuropathy. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders: 1999.
20. Feldman EL, Russell JW, Sullivan KA, Golovoy D. New insights into the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Curr Opin Neurol*. 1999; 12: 553-63.
21. Olaleye D, Perkins BA, Bril V. Evaluation of three screening tests and a risk assessment model for diagnosing peripheral neuropathy in the diabetes clinic. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001; 54: 115-28.
22. Larijani B, Afshari M, Bastan Hagh MH, Pajouhi M, Khani M, Shajarian M. The prevalence of limb amputation in patients with diabetic foot ulcer In Shariati Hospital and Imam Khomeini Hospital in Tehran from 1358 to 1373. *Journal of Diabetes and Lipid*. Iran University of Medical Sciences. 2001; 1: 83 to 85.
23. Kahn CR, Weir GC. Joslin's Diabetes Mellitus. 13th ed. Philadelphia: Lea and Febiger: 1994.
24. Valk GD, Kriegsman DM, Assendelft WJ. Patient education for preventing diabetic foot ulceration. A systematic review. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2002; 31: 633-58.
25. Partanen J, Niskanen L, Lehtinen J, Mervaala E, Siitonen O, Uusitupa M. Natural history of peripheral neuropathy in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1995; 333: 89-94.
26. Novella SP, Inzucchi SE, Goldstein JM. The frequency of undiagnosed diabetes and impaired glucose tolerance in patients with idiopathic sensory neuropathy. *Muscle Nerve*. 2001; 24: 1229-31.

27. [No authors listed] Consensus development conference on the diagnosis of coronary heart disease in people with diabetes: 10-11 February 1998, Miami, Florida. American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 1998; 21: 1551-9.
28. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care*. 2003; 26: 1553-79.
29. Frykberg RG, Armstrong DG, Giurini J, Edwards A, Kravette M, Kravitz S, et al. Diabetic foot disorders: a clinical practice guideline. American College of Foot and Ankle Surgeons. *J Foot Ankle Surg*. 2000; 39: 1-60.
30. Sommer TC, Lee TH. Charcot foot: the diagnostic dilemma. *Am Fam Physician*. 2001; 64: 1591-8.
31. Valdovinos MA, Camilleri M, Zimmerman BR. Chronic diarrhea in diabetes mellitus: mechanisms and an approach to diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc*. 1993; 68: 691-702.
32. Wald A. Incontinence and anorectal dysfunction in patients with diabetes mellitus. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1995; 7: 737-9.
33. Chu NV, Edelman SV. Erectile dysfunction and diabetes. *Curr Diab Rep*. 2002; 2: 60-6.
34. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993; 329: 977-86.
35. [No authors listed]. Effect of intensive diabetes treatment on nerve conduction in the Diabetes Control and Complications Trial. *Ann Neurol*. 1995; 38: 869-80.
36. Hollingshead TS. Pathophysiology and treatment of diabetic foot ulcer. *Clin Podiatr Med Surg*. 1991; 8: 843-55.
37. Armstrong DG, Lavery LA. Diabetic foot ulcers: prevention, diagnosis and classification. *Am Fam Physician*. 1998; 57: 1325-32.
38. Reaven GM, Thompson LW, Nahum D, Haskins E. Relationship between hyperglycemia and cognitive function in older NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1990; 13(1):16-21.
39. Ryan CM. Neurobehavioral complications of type I diabetes, Examination of possible risk factors. *Diabetes Care*. 1988; 11(1):86- 93.
40. Tun PA, Nathan DM, Perlmutter LC. Cognitive and affective disorders in elderly diabetics. *Clin Geriatr Med*. 1990; 6(4):731-46.

41. Patil CS, Singh VP, Kulkarni SK. Modulatory effect of sildenafil in diabetes and electroconvulsive shock-induced cognitive dysfunction in rats. *Pharmacol Rep.* 2006; 58(3):373-80.
42. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol.* 2006; 537(1-3):106-10.
43. Ahmad M, Saleem S, Ahmad AS, Yousuf S, Ansari MA, Khan MB, et al. Ginkgo biloba affords dose-dependent protection against 6- hydroxyl dopamine-induced parkinsonism in rats: neurobehavioural, neurochemical and immunohistochemical evidences. *J Neurochem.* 2005;93(1):94-104.
44. Ansari MA, Ahmad AS, Ahmad M, Salim S, Yousuf S, Ishrat T, et al. Selenium protects cerebral ischemia in rat brain mitochondria. *Biol Trace Elem Res.* 2004; 101(1):73-86.
45. Landmark K. Could intake of vitamins C and E inhibit development of Alzheimer dementia? *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2006; 126(2):159- 61.
46. Sabin M. Type 2 diabetes in children. *Clinical Obesity.* 2013; 3:112-116.
47. Reinehr T, Schober E, Roth CL, Wiegand S, Holl R. Type 2 diabetes in children and adolescents in a 2-year follow-up: insufficient adherence to diabetes centers. *Horm Res.* 2008; 69: 107-113.
48. Arslanian S. Type 2 diabetes in children: clinical aspects and risk factors. *Horm Res.* 2002; 57 Suppl 1: 19-28.
49. Sabin M. Type 2 diabetes in children. *Clinic al Obesity.* 2013; 3:112-116.
50. Springer SC, Silverstein J, Copeland K, Moore KR, Prazar GE, Raymer T, Shiffman RN, Thaker VV, Anderson M, Spann SJ, Flinn SK. Management of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *Pediatrics.* 2013; 131:648-64.
51. Jones KL, Arslanian S, Peterokova VA, Park JS, Tomlinson MJ. Effect of metformin in pediatric patients with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Diabetes Care.* 2002; 25: 89-94.
52. Reinehr T. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World J Diabetes.* 2013; 4(6): 270-81.
53. Shinoda M, Nakajin S, Oikawa T, Sato K, Kamogawa A, Akiyama Y: Biochemical studies on vasodilative factor in royal jelly. *YakugakuZasshi.* 1978, 98:139-145.

54. Hashimoto M, Kanda M, Ikeno K, Hayashi Y, Nakamura T. Oral administration of royal jelly facilitates mRNA expression of glial line-derived neurotrophic factor and neurofilament h in the hippocampus of the adult mouse brain. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2005; 69 (4):800-5.
55. Nakajima Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Mishima S, Hara H. Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *EMC Complement Alternm Med*. 2009; 9:4.
56. Hattori N, Nomoto H, Fukumitsu H, Mishima S, Furukawa Sh. Royal Jelly-induced neurite outgrowth from rat pheochromocytoma PC12 cell requires integrin signal independent of activation of extracellular signalregulated kinases. *Biomed Res*. 2007; 28 (3): 139-46.
57. Kanbur M, Eraslan G, Silici S, Karabacak M. Effects of sodium fluoride exposure on some biochemical parameters in mice: Evaluation of the ameliorative effect of royal jelly applications on these parameters. *Food Chem Toxicol*. 2009; 47(6): 1184-9.
58. Hattori N, Ohta Sh, Sakamoto T, Mishima S, Furukawa S. Royal jelly facilitates restoration of the cognitive ability in trimethyltin-intoxicated mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011: 165968.
59. Narita Y, Nomura J, Ohta S, Inoh Y, Suzuki KM, Araki Y, et al. Royal jelly stimulates bone formation: physiologic and nutrigenomic studies with mice and cell lines, biosci. *Biotechnol Biochem*. 2006; 70 (10): 2508-14.
60. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology.12th edition.Saunders Elsevier.2012;583.
61. Johnson RW1, Higa K.Prevention of herpes zoster pain.*Pain Manag*. 2012 Jan; 2(1):63-9.
62. Jurge S.Pain. Part 7: Trigeminal Neuralgia.*Dent Update*. 2016 Mar; 43(2):138-40, 143-6, 149.
63. Shams S, Arain A.Brown Sequard Syndrome.StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Jan 2019.
64. Vuralli D, Wattiez AS, Russo AF, Bolay H.Behavioral and cognitive animal models in headache research.*J Headache Pain*. 2019 Jan 31; 20(1):11
65. Ferrero VT, Oset MM, Masferrer JP, Pardo EH, Sorolla EJ, Largo SC. PrevaDIOR Study Group.Prevalence and characterization of breakthrough pain in cancer patients with proctalgia treated with 3D pelvic radiotherapy.*Clin Transl Oncol*. 2019 Apr 5.
66. Jensen,Troels S,Madsen,Caspar S,Finnerup,Nanna B,Pharmacology and treatment of neuropathic pains.Current opinion in neurology.2009; 22(5):467-74.
67. Vera Bril, FRCP, Douglas Zochodne. Evidence-based guideline: treatment of painful diabetic neuropathy. *Pm&r*. 2011; 3(4):345-52.

68. Pourmoradian Samira, Mahdavi Reza, Mobasseri Majid, Faramarzi Elnaz, et al. Effects of royal jelly supplementation on glycemic control and oxidative stress factors in type 2 diabetic female: a randomized clinical trial. *Chinese journal of integrative medicine*. 2014; 20(5):347-52.
69. Pourmoradian Samira, Mahdavi Reza, Mobasseri Majid, Faramarzi Elnaz, et al. Effects of royal jelly supplementation on body weight and dietary intake in type 2 diabetic females. *Health promotion perspective*. 2012; 2 (2):231.
70. Siavash Mansour, Shokri Saeideh, Haghighi Sepehr, Mohammadi Mahbubeh, et al. The efficacy of topical Royal jelly on diabetic foot ulcers healing: A case series. *Journal of research in medical sciences*. JIsfahan UMS. 2011; 16(7):904.
71. Shidfar Farzad, Jazayeri Shima, Mousavi Seyedeh Neda, Malek Mojtaba, et al. Does supplementation with royal jelly improve oxidative stress and insulin resistance in type 2 diabetic patients? *Iranian journal of public health*. 2015; 44(6):797.
72. Crenguta I Pavel, Liviu Al Marghitas, Otilia Bobis, Daniel S Dezmirean, et al. Biological activities of royal jelly-review. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 2011; 44(2):108-118.
73. Adem Aslan, Mustafa Cemek, Mehmet Emin Buvukokuroglu, Korhan Altunbas, et al. Royal jelly can diminish secondary neuronal damage after experimental spinal cord injury in rabbits. *Food and chemical toxicology*. 2012; 50(7):2554-59.
74. Maleki V, Jafari-Vayghan H, Alizadeh M, Saleh-Ghadimi S. Effects of royal jelly on metabolic variables in diabetes mellitus: A systematic review. *Complementary Therapies in Medicine*. 2019; 43:20-27.
75. Amany Abdel Rahman M, Yaser HA. Elewa, et al. Comparative protective effects of royal jelly and cod liver oil against neurotoxic impact of tartrazine on male rat pups brain. *Acta Histochemia*. 2015; 117(7):649-58.
76. Noushinfar E. The effect of diabetes persistence on formalin-induced analgesia and baclofen-induced analgesia in rats. 2003; 8(2):121 - 126.
77. Khalili Najafabadi Mohsen, Rahmati Batoul. Antinociceptive effect of alcoholic extract of Darya seed in male diabetic rats induced by streptozotocin injection. *TUMSJ* 2006; 4(14):21-29.
78. Roghani Mehrdad, Balouchnejad Mojarrad Turan Dokht. Antinociceptive Effect of Black Cranberry in Male Diabetic Rat. *J Babol UMS*. 2011; 13(3):22-28.
79. Babaei BF, Ilkhanipour M, Heydari R, Zare S, Barnousi I. Effect of Melatonin Bond on Peripheral Neuropathy in Diabetic Rat. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2009; 1(43):79- 87.

80. Nasri Sima, Naseri Mohsen, Majdbarzaki Maryam. The Effect of Antinociceptive Hydroalcoholic Extract of Sadkofi Plant in Diabetic Rats, J Birjand UMS. 2014; 21(3): 0-0.
81. Tamtaji Omidreza, Talaei Seyyed AliReza, Taghizadeh Mohsen. Effect of Hydrochloric Acid Extract on Diabetic Neuropathy in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. J Qom UMS. 2015; 9(5):61-70.
82. Roghani Mehrdad, baluchnejad Mojarad Toran Dokht, Roghani Dehkordi Farshad, Rahimian Ghorban Ali. Antinociceptive study of chronic and chronic consumption of pepper fruits in the experimental model of diabetes mellitus in rats. JMJ. 2005; 4(3):243-49.
83. Roghani Mehrdad, Balouchnejad Mojarad Turan Dokht. Antinociceptive effect of oral cystic fluid in male diabetic rats Male. J Shahrekord UMS. 2011; 12(4):64-70.
84. Jamaludin M, AH Nazratun Nafizah, AH Zariyantey, SB Budin. Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage: The role of oxidative stress and inflammation. Sultan Qaboos Univ Med J. 2016 May; 16(2): e132–e141.
85. Hattori N, Nomoto H, Fukumitsu H, Mishima S, Furukawa S. Royal jelly and its unique fatty acid, 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid, promote neurogenesis by neural stem/progenitor cells in vitro. Biomed Res. 2007; 28(5):261–6.
86. Sobhy EA, Tailang M, Ali HM, Patil U. Pharmacological Activities of Royal Jelly. Int J Rec Adv Pharm Res. 2011; 2(4):21–6.
87. Yang XY, Yang DS, Wei Z, Wang JM, Li CY, Hui Y, et al. 10-Hydroxy-2-decenoic acid from Royal jelly: a potential medicine for RA. J Ethnopharmacol. 2010; 128(2):314–21.
88. Kohno K, Okamoto I, Sano O, Arai N, Iwaki K, Ikeda M, et al. Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. Biosci Biotechnol Biochem. 2004; 68(1):138-45.
89. Munstedt K, Bargello M, Hauenschild A. Royal jelly reduces the serum glucose levels in healthy subjects. J Med Food. 2009; 12(5):1170–2.
90. Esteghamati A, Larijani B, Aghajani MH, Ghaemi F, Kermanchi J, Shahrami A,etal. Diabetes in Iran: Prospective Analysis from First Nationwide Diabetes Report of National Program for Prevention and Control of Diabetes (NPPCD-2016).Sci Rep. 2017 Oct 18; 7(1):13461.
91. Patel SS, Udayabanu M.Effect of natural products on diabetes associated neurological disorders.Rev Neurosci. 2017 Apr 1; 28(3):271-293.



Qazvin University of Medical Sciences & Health Services

Medical School

Thesis for obtaining a doctoral degree

Title

The effect of long-term administration of royal jelly on formalin-induced hyperalgesia in adult male diabetic rats

Supervisor

Dr. Mohammad Sofiabadi

Consultant professors

Dr. Mohammad Hossein Esmaeili

Writing

Alireza Masoumi

April, 2019

The effect of long-term administration of royal jelly on formalin-induced hyperalgesia in adult male diabetic rats

Background and Aim: Diabetes mellitus damages various organs, especially the nervous system, and thus affects their function. One of the systems involved is diabetes transmission and pain management. The royal jelly has been claimed to have a protective effect on the nervous system. Therefore, in this experimental study, the effect of long royal jelly administration on formalin in adult male diabetic rats was investigated.

Materials and Methods: In this study, 40 male Wistar rats were randomly divided into 5 groups of 8, including: 1) control group 2) diabetic group without treatment 3) diabetic group receiving diphtheria glybenicamide 600 micrograms per kilogram. 4) The diabetic group receiving royal jelly at a dose of 100 mg / kg. 5) The diabetic group receiving royal jelly at a dose of 200 mg / kg. Animals in group 3 received glibenclamide for 30 days and groups 4 and 5 received oral gavel for 30 days. For induction of diabetes mice, a freshly prepared streptozotocin solution (mg / kg body weight) was used. 48 hours after STZ injection, blood samples were taken from the venous vein and only animals with a blood glucose level of 200 mg / dl or higher were considered as diabetic. After the 30-day period of diabetic rupture and feeding of animals with royal jelly or drug or solvent, between 9:00 and 12:00 in the laboratory, formalin test was performed under standard conditions.

Results: The results showed that diabetes increased formalin pain sensation. Royal jelly treatment, especially at a dose of 200 mg / kg, prevented the effect of diabetes on the physiological process of pain ($P < 0.05$).

Conclusion: According to these findings, diabetes causes a natural pain sensation disorder, and the use of royal jelly is likely to prevent the onset of severe complications through inhibition of nerve damage.

Keywords: Pain, Royal Gel, Formalin Test, Rat, Diabetes.